



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **10010436 A**

(43) Date of publication of application: **16.01.98**

(51) Int. Cl.

**G02B 21/00**  
**G02B 21/06**  
**G02B 21/36**

(21) Application number: 08182803

(71) Applicant: NIKON CORP

(22) Date of filing: 24.06.96

(72) Inventor: **KUROIWA YOSHINORI**

**(54) OPTICAL SCANNING TYPE MICROSCOPE**

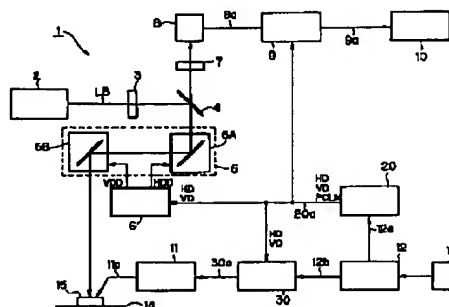
synchronizing signal generating circuit 20 with the output of the pointing device 13.

(57) Abstract:

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide an optical scanning type microscope capable of observing physiological phenomenon caused in a cell just before and after giving a trigger signal.

**SOLUTION:** This microscope is provided with a scanning unit 5 two-dimensionally scanning laser light on the cell 15, a synchronizing signal generating circuit 20 controlling the movement of the scanning unit 5, a fluorescence detector 8 detecting light from the cell 15, an image processing circuit 9 in which the image of the cell 15 is obtained by one frame based on the output of the fluorescence detector 8 and the output of the synchronizing signal generating circuit 20, an electric stimulating device 11 stimulating the cell 15 and a trigger signal generating circuit 30 outputting the trigger signal 30a starting the electric stimulating device 11. In this case, it is provided with a pointing device 13 specifying the position of the horizontal scanning line of a frame from which the trigger signal 30a is outputted and a computer 12 outputting the trigger signal 30a from the trigger signal generating circuit 30 by synchronizing the output of the



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-10436

(43) 公開日 平成10年(1998)1月16日

| (51) Int. CL <sup>4</sup> | 識別記号  | 片内整理番号 | P I           | 技術表示箇所 |
|---------------------------|-------|--------|---------------|--------|
| G 0 2 B                   | 21/00 |        | G 0 2 B 21/00 |        |
|                           | 21/06 |        | 21/06         |        |
|                           | 21/36 |        | 21/36         |        |

審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平3-182303

(22) 出願日 平成 8 年(1996) 6 月24日

(71) 出願人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72) 発明者 黒岩 義典

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株

式会社ニコン内

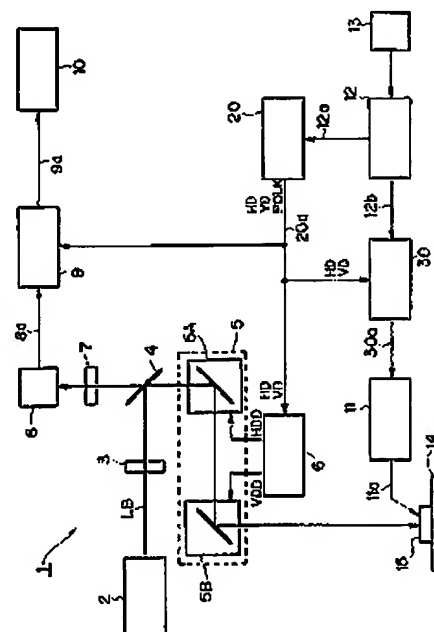
(74) 代理人 弁理士 木内 修

(54) 【発明の名称】 光走査型顕微鏡

(57) 【要約】

【課題】 トリガ信号を与える直前・直後における細胞に生じた生理現象を観察できる光走査型顕微鏡を提供する。

【解決手段】 レーザ光を細胞15上で2次元走査するスキャニングユニット5と、スキャニングユニット5の動きを制御する同期信号発生回路20と、細胞15からの光を検出する蛍光検出器8と、蛍光検出器8の出力と同期信号発生回路20の出力とに基づいて細胞15の画像を1フレームずつ得る画像処理回路9と、細胞15に刺激を与える電気刺激装置11と、電気刺激装置11を起動するトリガ信号30aを出力するトリガ信号発生回路30とを備えた光走査型顕微鏡1において、トリガ信号30aを出力すべき、フレームの水平走査ラインの位置を指定するポインティングデバイス13と、同期信号発生回路20の出力とポインティングデバイス13の出力との同期をとってトリガ信号発生回路30からトリガ信号30aを出力させるコンピュータ12とを備える。



(2) 特開平10-10436

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 光ビームを試料上で2次元的に走査する走査手段と、この走査手段の動きを制御する同期信号発生回路と、前記試料からの光を検出する検出手段と、この検出手段の出力と前記同期信号発生回路の出力とに基づいて前記試料の画像を1フレームずつ得る画像処理手段と、前記試料に刺激を与える刺激装置と、前記刺激装置を起動するトリガ信号を出力するトリガ信号発生回路とを備えた光走査型顕微鏡において、

前記トリガ信号を出力すべき、前記フレームの水平走査ラインの位置を指定する設定手段と、

前記同期信号発生回路の出力と前記設定手段の出力との同期をとって前記トリガ信号発生回路からトリガ信号を出力させる制御手段とを備えることを特徴とする光走査型顕微鏡。

【請求項2】 前記制御手段は、前記フレームの内から前記トリガ信号を出力すべきフレームを指定することを特徴とする請求項1に記載の光走査型顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】この発明は光走査型顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】生物試料に光を照射し、生物試料に起きる現象を観察する顕微鏡として光走査型顕微鏡が知られている。

【0003】上記光走査型顕微鏡、例えばレーザ走査型顕微鏡は、レーザ光を細胞（試料）上で2次元的に走査するスキャニングユニットと、スキャニングユニットの動きを制御する同期信号発生回路と、試料からの光（蛍光、反射光、透過光等）を検出する検出器と、この検出器の出力と前記同期信号発生回路の出力とに基づいて試料の画像を1フレームずつ得る画像処理回路と、モニタと、試料に電気や光による刺激を与える刺激装置と、刺激装置を起動するトリガ信号を出力するトリガ信号発生回路とを備える。

【0004】このレーザ走査型顕微鏡を用いて、例えば観察する細胞に刺激装置から電気刺激を与え、その直後の細胞に起きる生理現象を観察する電気生理の実験が行なわれる。

【0005】一般的に電気刺激によって起こる生理現象の反応は、非常に高速であるため、画像を取得するためには、走査と電気刺激を与えるタイミングとの同期をとる必要がある。

【0006】そのため、画像を取得する際には、トリガ信号発生回路から画像取得するフレームの最初に電気刺激のためのトリガ信号を出力し、走査と電気刺激を与えるタイミングとの同期をとるようにしていた。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】ところで、最近では電

2

気刺激を与えた直後だけでなく、電気刺激を与える直前の生理現象をも含めて観察したいという要求がでてきている。

【0008】しかし、従来の光走査型顕微鏡においては、上記構成によって電気刺激を与えた後に画像が取得されるため、刺激を与える直前の（場合によっては直後も）生理現象を観察することはできなかった。

【0009】この発明はこのような事情に鑑みてなされたもので、その課題はトリガ信号を与える直前及び直後における細胞に生じた生理現象を観察できる光走査型顕微鏡を提供することである。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決すべく請求項1に記載の発明の光走査型顕微鏡は、光ビームを試料上で2次元的に走査する走査手段と、この走査手段の動きを制御する同期信号発生回路と、前記試料からの光を検出する検出手段と、この検出手段の出力と前記同期信号発生回路の出力とに基づいて前記試料の画像を1フレームずつ得る画像処理手段と、前記試料に刺激を与える刺激装置と、前記刺激装置を起動するトリガ信号を出力するトリガ信号発生回路とを備えた光走査型顕微鏡において、前記トリガ信号を出力すべき、前記フレームの水平走査ラインの位置を指定する設定手段と、前記同期信号発生回路の出力と前記設定手段の出力との同期をとって前記トリガ信号発生回路からトリガ信号を出力させる制御手段とを備えることを特徴とする。

【0011】設定手段によってフレームの任意の水平ライン位置でトリガ信号を発生させることができるので、トリガ信号を与える直前及び直後の細胞の生理現象を観察することができる。

【0012】請求項2に記載の発明の光走査型顕微鏡は、請求項1に記載の光走査型顕微鏡において、前記制御手段は、前記フレームの内から前記トリガ信号を出力すべきフレームを指定することを特徴とする。

【0013】フレーム毎にトリガ信号が制御されるので、任意のフレームにおける水平ラインでトリガ信号を出力することができる。

【0014】

【発明の実施の形態】以下、この発明の実施の形態を図面に基いて説明する。

【0015】図1はこの発明の一実施形態に係るレーザ走査型顕微鏡のブロック構成図である。

【0016】レーザ走査型顕微鏡（光走査型顕微鏡）1は、レーザ光源2と、レーザシャッタ3と、ダイクロイックミラー4と、スキャニングユニット5と、同期信号発生回路20と、スキャナ制御回路6と、バリアフィルタ7と、蛍光検出器8と、画像処理回路9と、モニタ10と、電気刺激装置11と、トリガ信号発生回路30と、コンピュータ12と、ポインティングデバイス13とを備える。

(3)

特開平10-10436

3

【0017】レーザ光源2は、ステージ14上に設置された細胞（試料）15を照射するレーザ光を発する。

【0018】レーザシャッタ3は、レーザ光LBの透過と遮断を行ない、レーザシャッタ3としては、例えばAOD（音響光学変調器）が用いられる。

【0019】ダイクロイックミラー4は、レーザ光LBを反射し蛍光を透過させることでレーザ光LBと蛍光とを分離する。

【0020】スキャンニングユニット5は、ステージ14に設置された細胞15上でレーザ光LBを2次元的に走査させるものであって、水平スキャナ5A及び垂直スキャナ5Bで構成される。

【0021】スキャナ制御回路6は、同期信号発生回路20の出力信号20aに基づいて水平スキャナ5A及び垂直スキャナ5Bを制御する水平スキャナ制御信号HD及び垂直スキャナ制御信号VDを出力する。

【0022】同期信号発生回路20は、システムをコントロールしているコンピュータ12からの画像取得開始指令12aに基づいて、出力信号（水平同期信号HD、垂直同期信号VD、ピクセルクロックPCLK）20aを出力する。

【0023】蛍光検出器8は、細胞15からの蛍光を検出し、入力した蛍光を光強度信号8aに変換する。

【0024】バリアフィルタ7は、ダイクロイックミラー4と蛍光検出器8との間に配置され、レーザ光をカットする。

【0025】画像処理回路9は、A/D変換素子、フレームメモリ（デジタルメモリ）、D/A変換素子等の画像化のための回路からなり、蛍光検出器8の出力信号8aと同期信号発生回路20の出力信号20aとに基づき画像信号9aを出力する。

【0026】モニタ10は、例えばCRTであり、細胞15の画像を表示する。

【0027】ポインティングデバイス13は、例えばタブレット（デジタルタイザ）、ライトペン、マウスであり、コンピュータ12に接続されており、画像処理回路9を介してモニタ10上の任意の水平ライン（走査することによって生じる）を指示することができる。

【0028】トリガ信号発生回路30は、コンピュータ12の指示信号12bと同期信号発生回路20の出力信号20aに基づいてポインティングデバイス13で指定された任意の水平ラインの位置にトリガ信号30aを出力する。

【0029】電気刺激装置11は、トリガ信号30aに同期して細胞15に電気刺激信号11aを与える。

【0030】上記レーザ走査型顕微鏡の動作を説明する。

【0031】レーザ光源2から出射されたレーザ光LBは、レーザシャッタ3を通過した後、ダイクロイックミラー4で反射され、スキャンニングユニット5へ導かれ、

4

水平スキャナ5A及び垂直スキャナ5Bによって細胞15上で2次元走査される。

【0032】レーザ光LBの照射によって励起され細胞15から発せられた蛍光は同じ光路を逆行し、垂直スキャナ5B及び水平スキャナ5Aでデスキャンニングされ、ダイクロイックミラー4を透過し、レーザ光LBと分離される。

【0033】ダイクロイックミラー4を透過した蛍光はバリアフィルタ7で完全に蛍光だけになり、蛍光検出器8に入射し、光強度電気信号8aに変換される。

【0034】この光強度電気信号8aはA/D変換素子で同期信号発生回路20からのPCLKにてデジタル信号に変換され、同期信号発生回路20からの同期信号20aにてフレームメモリに記憶され、コンピュータで各種の処理を行った後、D/A変換素子でデジタル信号からアナログ信号に戻され、画像信号9aとしてモニタ10へ出力される。

【0035】このとき、観察者はモニタ10を静止画像表示とし、この静止画像表示された蛍光画像を見ながらポインティングデバイス13でトリガする水平ラインを指示する。

【0036】図2は同期信号発生回路の詳細ブロック図であり、この図を参照して同期信号発生回路の動作を説明する。同期信号発生回路20は垂直同期信号発生回路21と、水平同期信号発生回路22と、ピクセルクロック発生回路23と、1水平ラインカウンタ回路24と、1フレームカウンタ回路25とからなる。

【0037】垂直同期信号発生回路21はコンピュータ12から画像取得開始指令12aを受け、垂直走査を開始させる垂直同期信号VDをスキャナ制御回路6へ出力する。

【0038】この垂直同期信号VDは、同時に水平同期信号発生回路22に入力され、水平走査を開始させる水平同期信号HDをスキャナ制御回路6へ出力する。

【0039】水平同期信号HDは、同時にピクセルクロック発生回路23に入力され、蛍光データをサンプリングするピクセルクロックPCLKを出力する。

【0040】1水平ラインカウンタ回路24は、水平同期信号HDとピクセルクロックPCLKとを入力し、水平同期信号HDの入力に同期してピクセルクロックPCLKのカウントを開始し、予め設定されたクロック数（1水平ラインの1周期に当たるピクセルクロックの数）をカウントし終えると、トリガ信号TR1を水平同期信号発生回路22へ出力する。

【0041】水平同期信号発生回路22は、トリガ信号TR1を入力すると、次のラインを走査するための水平同期信号HDを出力する。

【0042】1フレームカウンタ回路25は、垂直同期信号VDと水平同期信号HDとを入力し、垂直同期信号VDの入力に同期して水平同期信号HDのカウントを開

(4)

特開平10-10436

5

始し、予め設定された数(1フレームの1周期に当たる水平同期信号の数)をカウントし終えると、トリガ信号TR2を垂直同期信号発生回路21へ出力する。

【0043】垂直同期信号発生回路21はトリガ信号TR2を入力すると、次のフレームの走査を開始し、垂直同期信号VDを出力する。

【0044】スキャナ制御回路6は、この同期信号発生回路20を用いて同期をとって水平スキャナ5Aと垂直スキャナ5Bとを駆動することでレーザ光LBを2次元的に走査する。

【0045】図3はトリガ信号発生回路の詳細ブロック図、図4はモニタ画面の一例を示す図であり、これらの図を参照してトリガ信号発生回路の動作を説明する。

【0046】トリガ信号発生回路30は、水平同期信号カウント回路31と、コンパレータ32と、トリガライン設定回路33と、ゲート回路34とからなる。

【0047】水平同期信号カウント回路31は、垂直同期信号VDと水平同期信号HDとを入力し、垂直同期信号VDの入力に同期して水平同期信号HDのカウントを開始し、カウント信号31aを比較値Bとして出力する。

【0048】トリガライン設定回路33は、コンピュータ12からの指示信号12bによってトリガすべき水平ラインの位置を指定し、この指定された位置を示すトリガライン設定信号33aを基準値Aとして出力するとともに、この基準値Aを新たな指示信号12bが入力されるまで保持する。

【0049】コンパレータ32は基準値Aと比較値Bとを入力し、両者の値が一致(A=B)したとき、例えばHレベルの出力信号32aを出力する。

【0050】ゲート回路34は、例えば2入力ANDゲートであり、このANDゲートの一方の端子にはコンピュータ12からフレーム毎にHレベル又はLレベルのゲート信号12cが入力されている。

【0051】したがって、ゲート回路34はコンピュータ12で指定されたフレーム(Hレベルのゲート信号12cが入力されたフレーム)のとき、電気刺激装置11にトリガ信号30aを出力する。その結果、このトリガ信号30aに同期して電気刺激装置11は電気刺激信号11aを細胞15(図1参照)へ出力する。

【0052】この実施形態によれば、1フレームの任意の水平ラインの位置10aで細胞15に電気刺激を与えることができるので、観察者は電気刺激を与える直前及び直後の細胞15に生じた生理現象を容易に観察することができる。

【0053】しかも、トリガ信号30aは水平同期信号に同期して発生させるので、指定したトリガすべき水平ラインの位置と1ラインのずれもなく発生させることができる。

【0054】なお、上記実施形態においては観察者はモ

6

ニタ10に静止画像表示された蛍光画像を見ながらポインティングデバイス13でトリガする水平ラインの位置を指示したが、観察者は観察に先立って(モニタ画像を見ずに)コンピュータでトリガすべき水平ラインの位置を指定するようにしてもよい。

【0055】また、上記実施形態においては電気刺激の場合を説明したが、この発明はこの場合に限るものではなく、光による刺激の場合などのように外部刺激をあてる用途にも適用することができる。例えば細胞内に注入されたケイジドコンバウンドを、紫外レーザ光を照射するタイミングを決めて開裂させ、細胞内に予め注入されている蛍光試薬と選択的に結合させ、発した蛍光を観察するような場合にも適用することができる。

【0056】

【発明の効果】以上に説明したように請求項1記載の発明の光走査型顕微鏡によれば、設定手段によってフレームの任意の水平ライン位置でトリガ信号を発生させることができるので、トリガ信号に同期する刺激によって引き起こされる高速度な生理現象であっても刺激を与える直前、直後の細胞の生理現象を容易に観察することができる。

【0057】請求項2記載の発明の光走査型顕微鏡によれば、フレーム毎にトリガ信号が制御されるので、任意のフレームにおける水平ラインでトリガ信号を出力することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1はこの発明の一実施形態に係るレーザ走査型顕微鏡のブロック構成図である。

【図2】図2は同期信号発生回路の詳細ブロック図である。

【図3】図3はトリガ信号発生回路の詳細ブロック図である。

【図4】図4はモニタ画面の一例を示す図である。

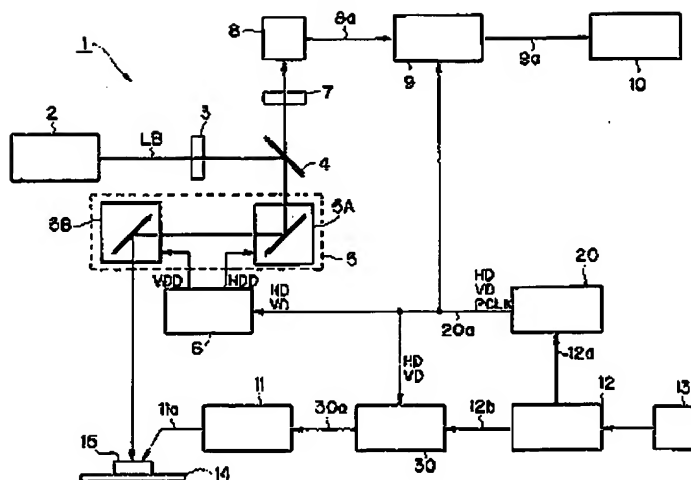
【符号の説明】

- 1 レーザ走査型顕微鏡
- 2 光源
- 3 レーザシャッタ
- 4 ダイクロイックミラー
- 5 スキャニングユニット
- 6 スキャナ制御回路
- 7 バリアフィルタ
- 8 蛍光検出器
- 9 画像処理回路
- 10 モニタ
- 11 電気刺激装置
- 12 コンピュータ
- 13 ポインティングデバイス
- 15 細胞(試料)
- 20 同期信号発生回路
- 30 トリガ信号発生回路

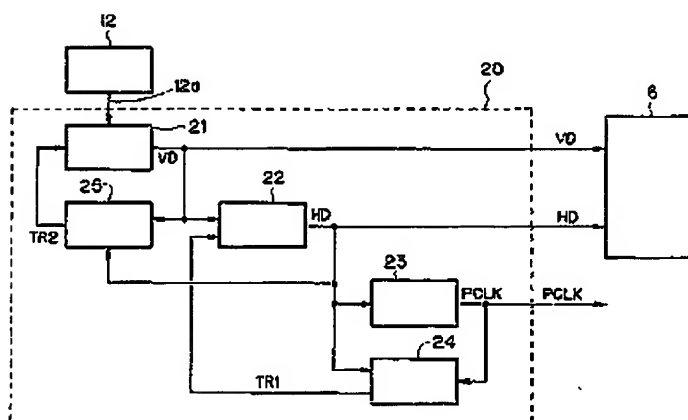
(5)

特開平 10-10436

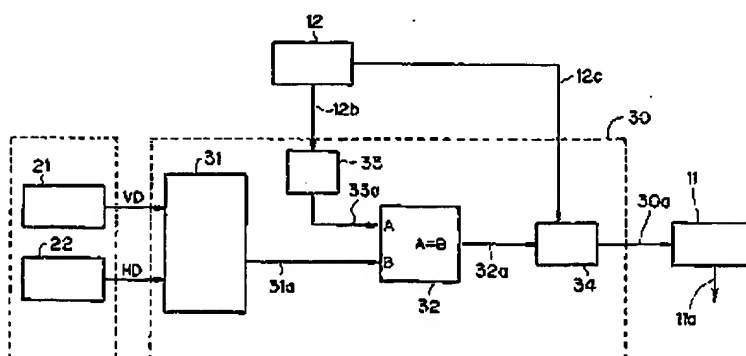
【圖 1】



【圖2】



【図3】



(5)

特開平10-10436

【図4】

